

Sifat-Sifat Fenotipik *Pseudomonas fluoresen*, Agensia Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung

Phenotypic characteristics of fluorescent pseudomonas, biological control agent of lincat disease of temanggung tobacco

TRIWIDODO ARWIYANTO, YMS MARYUDANI, NINING NURUL AZIZAH

Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

Diterima: 06 Januari 2007. Disetujui: 28 Maret 2007.

ABSTRACT

Fluorescent pseudomonas isolated from local plants-rishosphere in temanggung controlled lincat disease of tobacco. This report describe phenotypic characteristics of the bacteria in order to be used as a base for the development of the bacteria as a biological control agent of lincat disease. Phenotypic characteristics of six isolates of fluorescent Pseudomonas which controlled lincat disease in the field were determined in the laboratory of Plant Bacteriology, Faculty of Agriculture, Gadjah Mada University. Plant pathogenicity tests were conducted by hypersensitive reaction into tobacco leaf and inoculation to tobacco plants. Antagonism test between fluorescent Pseudomonas and other candidate of biological control agents were also conducted. The results indicated that the bacteria were rod shape, Gram negative, positive reaction in catalase and oxidase tests. Nitrate reduce to nitrite, arginine was hydrolysed, fluorescent pigment were produced on King's B medium, levan formation positive and all bacteria denitrify. The bacteria used urea, tween 80 and amyllum were not hydrolised, poly- γ -hydroxybutyrate was not accumulated in the cells. Negative reactions were observed for lysine decarboxylation, indol production, VP/MR reaction, and gelatin liquefaction. Some compounds could be used as solely carbon sources. All isolates grew on the medium containing 2% NaCl. The best pH for growth was 6-7 and all isolates grew at 20-41C. Negative result were obtained for hypersensitive reaction and pathogenicity tests.

© 2007 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: fluorescent Pseudomonas, phenotypic characteristics, tobacco, lincat disease.

PENDAHULUAN

Penyakit lincat pada tembakau di Temanggung menyebabkan tanaman menjadi layu, kerdil, menguning, dan kemudian mati. Penyakit ini disebabkan oleh kombinasi bakteri *Ralstonia solanacearum* dan nematoda *Meloidogyne incognita* (Dalmadiyo, 2004). Penyakit tersebut dapat menyebabkan kematian tanaman tembakau lebih dari 50% (Murdiyati *et al.*, 1991). Pengendalian secara biologi banyak mendapat perhatian dari para ahli karena pengendalian ini dapat dikombinasikan dengan cara-cara lain dan dapat mengurangi penggunaan bahan kimia (Cook and Baker, 1983). *Pseudomonas fluoresen* telah dilaporkan dapat mengurangi intensitas penyakit lincat di lapangan (Arwiyanto dkk., *in press*). Untuk dapat menggunakan agensia pengendalian hayati secara efektif diperlukan pemahaman sifat-sifat dari agensia tersebut yaitu sifat-sifat fenotipik bakteriologis dan sifat patogenitasnya terhadap tanaman. Tulisan ini melaporkan sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluoresen* yang berhasil menekan perkembangan penyakit lincat di lapangan.

BAHAN DAN METODE

Isolat bakteri

Semua isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi dari Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Fakultas Pertanian UGM, yang pada penelitian sebelumnya dilaporkan bakteri tersebut mampu menekan penyakit lincat di lapangan. Isolat *Pseudomonas fluoresen* adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Isolat *Pseudomonas fluoresen* yang digunakan dalam penelitian

Kode Isolat	Asal Isolat	Tahun Isolasi
Pf22	Cabai	2004
Pf23	Cabai	2004
Pf30	Cabai	2004
Pf42	Cabai	2004
Pf51	Cabai	2004
Pf83	Cabai	2004

Isolat *Ralstonia solanacearum* yang digunakan adalah isolat Rs-22 yang diisolasi dari lahan lincat di daerah Temanggung pada tahun 2004.

Isolat agens hayati lainnya yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Streptomyces* spp (Stre-4, Stre-7, Stre-48, Stre-61, Stre-66, dan Stre-67) dan *Bacillus* spp. (Ba-4, Ba-22, Ba-24, Ba-30, Ba-33, dan Ba-41) yang diisolasi dari lahan lincat di Temanggung pada tahun 2004.

Alamat Korespondensi:

Jl. Flora Bulaksumur-55281 Yogyakarta
Tel.: +62-0275-523926. Fax.: +62-0275-523926
e-mail : tarwiyanto@yahoo.com

Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tembakau varietas klemoko. Varietas ini dipilih karena merupakan varietas unggul yang banyak ditanam oleh petani tembakau di Temanggung (Dalmadiyo, 2004).

Kultivikasi Isolat

Bakteri *Pseudomonas fluoresen* ditumbuhkan pada permukaan medium King's B (Sands, 1990) sedangkan *R. solanacearum* pada medium YPA (Arwiyanto *et al.*, 1993) pada suhu kamar selama dua hari sebelum digunakan dalam penelitian.

Pengamatan Sifat Morfologi koloni dan sel

Bentuk dan warna koloni diamati secara visual dengan mata telanjang dengan dan tanpa sinar ultra violet dengan panjang gelombang 365 nm. Pengecatan negatif dilakukan berdasarkan metode Jutono *et al.*, 1973 untuk melihat morfologi individu sel.

Pengamatan Sifat Fisiologi, Biokimia dan patogenisitas terhadap tanaman

Pengujian berbagai sifat-sifat fisiologi dan biokimia dilakukan sebagai berikut: pengujian sifat Gram, katalase, hidrolisis pati, denitrifikasi, oksidatif fermentatif, pembentukan levan dari sukrosa, akumulasi poly- -hydroxybutirate, aktivitas lipolitik (hidrolisa Tween80), Uji VP-MR, penggunaan senyawa karbon (Sands, 1990); pencairan gelatin (Hayward, 1994); uji oksidase, hidrolisis arginin, aktivitas urease, pembentukan indol (Fahy and Hayward, 1983); pertumbuhan pada berbagai suhu, pembentukan pigmen (Brawn-Kiewnick and Sands, 2001), uji patogenisitas terhadap tanaman dan pengujian reaksi hipersensitif (Klement, 1990); pertumbuhan pada berbagai pH medium, pertumbuhan pada medium yang mengandung berbagai konsentrasi NaCl (Stolp and Gadkari, 1983); dekarboksilasi lisin (Palleroni, 1983).

Pengujian antibiosis terhadap patogen lincat dan pengujian antagonisme antar agens pengendali hayati

Pengujian antarisolat bakteri dilakukan seperti yang dilaporkan oleh Arwiyanto (1997) sebagai berikut. Sebanyak 6 isolat yang diuji ditumbuhkan dengan cara dititik pada permukaan medium CPG dalam cawan Petri dengan jarak yang proporsional kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 48 jam. Setelah masa inkubasi cawan Petri dibalik sehingga tutupnya ada di bagian bawah. Pada tutup tersebut diteteskan satu ml chloroform kemudian dibiarkan selama 2 jam pada suhu kamar. Setelah semua uap chloroform menguap, pada permukaan medium tersebut dituangi dengan suspensi *R. solanacearum* atau isolat bakteri lain yang diuji dalam agar air 0,6%. Biakan diinkubasikan lagi selama 24 jam pada suhu kamar kemudian dicatat adanya zona penghambatan di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada cawan Petri. Zona penghambatan diukur dan dinyatakan dalam milimeter. Setelah zona diukur kemudian agar yang bening di zona hambatan diambil dan dimasukkan ke dalam medium air pepton 0,5% dan diinkubasikan secara aerob selama 24 jam pada suhu kamar. Air pepton yang tetap jernih menunjukkan bahwa zat penghambat yang dihasilkan mematikan bakteri yg lain (bakterisida) sedangkan kalau menjadi keruh maka zat penghambat tersebut hanya menekan pertumbuhan vegetatif saja (bakteriostatik). Pengujian penekanan terhadap nematoda oleh *Pseudomonas fluoresen* dilakukan seperti yang dilakukan oleh Dropkin (1996) dan

Dalmadiyo (2004) sebagai berikut. *Pseudomonas fluoresen* ditumbuhkan pada medium Yeast peptone cair (ekstrak yeast 5g, pepton 10g, air suling 1000ml, pH 6.8) kemudian diinkubasikan dengan digojok pada suhu kamar selama 24 jam. Biakan bakteri kemudian disentrifus untuk mendapatkan supernatannya. Massa telur nematoda diletakkan dalam syracuse kemudian ditambahkan supernatan bakteri. Sebelum dan setelah inkubasi, populasi telur dan larva dihitung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Bakteri

Koloni bakteri berbentuk bulat, tepi rata, fluidal dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan pada medium King's B. Pigmen tersebut membedakan bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *Pseudomonas fluoresen* dengan kelompok lain. Medium King's B merupakan medium yang sedikit mengandung ion Fe (Sands, 2001) sehingga bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *Pseudomonas fluoresen* akan membentuk siderofor yang fungsinya mengikat ion Fe. Siderofor dapat dideteksi dengan adanya pigmen warna kuning kehijauan yang berdifusi ke dalam medium King's B. Pigmen yang berdifusi ke dalam medium menjadi lebih jelas terlihat apabila diamati di bawah lampu ultraviolet dengan gelombang panjang (365 nm)(Gambar 1). Secara individu, bakteri berbentuk batang dengan ukuran 0,5-1,0 – 1,5-4,0 m.

Sifat Fisiologi dan Biokimia

Sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluoresen* yang diuji disajikan dalam Tabel 2. Semua isolat yang diuji bersifat Gram negatif, membentuk ensim katalase, oksidase positif, memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob), mampu menghidrolisa pati dan arginin, membentuk ensim gelatinase, melakukan denitrifikasi, tidak mengakumulasi poly- -hydroxybutirate. Isolat pf22 dan pf42 membentuk levan dari sukrosa sedangkan isolat lainnya (pf23, pf30, pf51 dan pf83) tidak membentuk levan. Keenam isolat membentuk pigmen fluoresen pada medium King's B namun tidak pada medium King's A. Urea dihidrolisis menjadi amonia oleh semua isolat. Isolat pf23, pf42, dan pf51 membentuk indol sedangkan isolat pf22, pf30, dan pf83 tidak membentuk indol. Dekarboksilasi lisin dan aktivitas lipolitik menunjukkan reaksi negatif. Kecuali pf30, semua isolat bereaksi positif terhadap uji methyl red sedangkan pada uji Voges Proskauer reaksi positif ditunjukkan oleh isolat pf22, pf23, pf30, dan pf42. Semua isolat mampu menggunakan glukosa, laktosa, fruktosa, trehalosa, selobiosa, manitol, dan dulcitol sebagai sumber karbon. Semua isolat tumbuh baik pada kisaran suhu 20-41C dengan pertumbuhan terbaik pada suhu 30C. pH terbaik untuk pertumbuhan adalah pada kisaran 6-7. Pada medium yang mengandung NaCl semua bakteri tumbuh sampai pada konsentrasi NaCl 2% (Tabel 1). Dari pengujian yang terbatas ini nampaknya sudah dapat diperkirakan bahwa isolat Pf-22 memiliki kemiripan dengan sifat fenotipik *Pseudomonas fluorescens* biovar II atau IV (Fahy and Lloyd, 1983). Isolat Pf-23, Pf-30, Pf-42, Pf-51, dan Pf-83 memiliki kemiripan sifat fenotipik dengan *P. putida* (Buchanan and Gibbons, 1979). Meskipun demikian untuk lebih memastikan hal tersebut, pengujian molekular diperlukan pada penelitian selanjutnya. Untuk pengembangannya sebagai agensia pengendalian hayati patogen tumbuhan maka sifat-sifat fenotipik tersebut di atas sudah cukup memadai.

Tabel 2. Sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluoresen* isolat temanggung

Sifat Fenotip	<i>P. fluorescens</i>							<i>P. ^Y</i>	<i>P. fluorescens</i>							
	Pf2 2	Pf2 3	Pf3 0	Pf4 2	Pf5 1	Pf8 3	<i>P. ^X</i> <i>putida</i>	I ^X	II ^X	III ^X	IV ^X	putida	I ^Y	II ^Y	III ^Y	IV ^Y
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalase	+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
Hidrolisis arginin	+	+	+	+	+	+	+									
OF	O	O	O	O	O	O										
Pigmen pada medium:																
King's A	-	-	-	-	-	-	-									
King's B	+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
Gelatinase	+	-	-	-	-	-	-					-	+	+	+	+
Denitrifikasi	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+					
Hidrolisis Tween 80	-	-	-	-	-	-	-									
Pati	+	-	-	+	-	-	-									
Reduksi nitrat	+	+	+	+	+	+	+					-	-	+	+	+
Urease	+	+	+	+	+	+	+									
Akumulasi PHB	-	-	-	-	-	-	-									
Dekarboksilase lisin	-	-	-	-	-	-	-									
Pembentukan indol																
2 hari	-	+	-	+	+	-	-									
5 hari	-	+	-	-	+	-	-									
Uji VP	+	+	+	-	-	-	-									
Uji MR	+	+	-	+	+	+	+									
Levan	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+
Toleransi NaCl																
0,5%	+	+	+	+	+	+	+									
0,75%	+	+	+	+	+	+	+									
1,0%	+	+	+	+	+	+	+									
2,0%	+	+	+	+	+	+	+									
Pertumbuhan pada pH:																
5	+	+	+	+	+	+	+									
5,5	+	+	+	+	+	+	+									
6	+	+	+	+	+	+	+									
6,5	+	+	+	+	+	+	+									
7	+	+	+	+	+	+	+									
Pertumbuhan pada suhu:																
20C	+	+	+	+	+	+	+									
25C	+	+	+	+	+	+	+									
30C	+	+	+	+	+	+	+									
35C	+	+	+	+	+	+	+									
41C	+	+	+	+	+	+	+									
Produksi asam dari:																
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
Sukrosa	+	-	+	+	+	+	+		+	+	-	+	+	+	-	+
Laktosa	+	+	+	+	+	+	+									
Maltosa	+	-	+	+	+	+	+									
Fruktosa	+	+	+	+	+	+	+									
Selobiosa	+	+	+	+	+	+	+									
Trehalosa	+	+	+	+	+	+	+	-				-	+	+	+	+
Pati	+	+	+	+	+	+	+									
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+									
Sorbitol	-	-	+	+	+	+	+		+	+	d	+	-	+	+	V
Dulcitol	+	+	+	+	+	+	+									
Myo-inositol	+	-	+	+	+	-	-									
Asam laktat	+	+	+	+	+	+	-									
DL-arginin	-	-	-	-	-	-	+									

Keterangan:

- +
 -
 - d
 - V
 - X
 - Y
- : reaksi positif
 : reaksi negatif
 : data tidak tersedia
 : hasil pengujian bervariasi, ada yang positif dan ada yang negatif
 : Diperoleh dari Buchanan and Gibbons (1979)
 : Diperoleh dari Fahy and Lloyd (1983)

Tabel 3. Penghambatan pertumbuhan *R. solanacearum* oleh *Pseudomonas fluorescens*

<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Zona hambatan (mm)	Mekanisme Penghambatan
pf22	0.0	-
pf23	7.5	Bakteriostatik
pf30	11.0	Bakteriostatik
pf42	0.0	-
pf51	0.0	-
pf83	3.3	Bakteriostatik

Keterangan :

- = mekanisme tidak diketahui karena isolat *Pseudomonas fluorescens* tidak menghambat pertumbuhan *R. Solanacearum***Tabel 4.** Penghambatan pertumbuhan *M. incognita* oleh *Pseudomonas fluorescens*

Isolat	Populasi Awal		Populasi Akhir	
	Telur	Larva	Telur	Larva
pf22	42	5	3	3
pf23	34	0	0	1
pf30	40	2	3	2
pf42	31	1	7	3
pf51	59	0	14	0
pf83	40	0	11	0
Kontrol	26	0	3	1

Sifat patogenisitas terhadap tanaman

Semua isolat tidak mampu menimbulkan reaksi hipersensitif pada daun tembakau yang berupa nekrosis pada bagian yang diinfiltrasi dengan suspensi bakteri. Demikian pula, inokulasi pada tanaman tembakau tidak menimbulkan malformasi atau gejala penyakit baik pada bagian yang dinokulasi maupun pada bagian tanaman yang lain. Hal ini membuktikan bahwa semua isolat *Pseudomonas fluorescens* yang diuji dalam penelitian ini tidak termasuk dalam kelompok patogen tumbuhan. Sampai sekarang dilaporkan ada satu spesies *Pseudomonas fluorescens* yang bersifat patogenik pada tumbuhan yaitu *Pseudomonas syringae* pv *syringae* (Fahy and Lloyd, 1983). Bakteri tersebut mampu tumbuh pada serasah tanaman dan dapat terbawa masuk ke dalam tanah oleh aliran air perkolasi atau air hujan (Goto, 1992). Oleh karena itu, uji patogenisitas terhadap tanaman bagi bakteri kelompok *Pseudomonas fluorescens* sangat perlu dilakukan.

Antagonisme terhadap *Ralstonia solanacearum*

Tiga di antara enam isolat yang diuji mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* *in vitro* dengan mekanisme penghambatan berupa bakteriostatik

(Tabel 3). Meskipun bakteri dalam kelompok *Pseudomonas fluorescens* mempunyai kemampuan membentuk siderofor dan senyawa antibiotik pada medium buatan namun tidak semua bersifat toksik terhadap bakteri lain termasuk terhadap bakteri patogen tumbuhan (Stolp and Gadkari, 1983). Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa tidak semua *Pseudomonas fluorescens* yang diisolasi dari rizosfer tanaman bersifat antagonistik terhadap *R. solanacearum* (Arwiyanto, 1997).

Antagonisme terhadap *Meloidogyne incognita*

Kemampuan menghambat pertumbuhan *M. incognita* berbeda-beda antar isolat yang diuji. Semua isolat membentuk enzim gelatinase karena mampu menghidrolisis gelatin (Tabel 2) dan seperti enzim ini juga dibentuk pada medium YP (*yeast extract* 5g, pepton 10g, air suling 1000 ml, pH 6.8) karena massa telur yang direndam dalam supernatan mengalami penurunan jumlahnya. Seperti dilaporkan bahwa massa telur nematoda diselubungi oleh bahan tipis yang terdiri dari senyawa gelatin (Dropkin, 1996). Kemampuan *Pseudomonas fluorescens* dalam menghambat pertumbuhan nematoda *Meloidogyne incognita* mungkin yang menyebabkan bakteri ini mampu menurunkan penyakit lincat di lapangan (Arwiyanto dkk, in press) karena penyakit lincat di lapangan disebabkan oleh sinergisme antara *M. incognita* dan *R. solanacearum* (Dalmadiyo, 2004).

Antagonisme terhadap bakteri antagonis lain

Pseudomonas fluorescens merupakan kelompok bakteri yang mampu menghasilkan berbagai senyawa penghambat pada medium buatan di laboratorium (Stolp and Gadkari, 1983). *Pseudomonas fluorescens* isolat temanggung juga mampu menghasilkan senyawa penghambat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri saprofit lainnya (Tabel 5). Kemampuan masing-masing isolat berbeda-beda, isolat pf22 hanya menghambat pertumbuhan satu isolat dari genus lain yang diuji yaitu Stre67 dengan zona hambatan 7 mm sedangkan isolat pf23 mampu menghambat semua bakteri lain yang diuji. Isolat Bacillus (Ba) dan Streptomyces (Stre) pada Tabel 5. merupakan bakteri antagonis terhadap patogen penyakit lincat tembakau selain *Pseudomonas fluorescens* sehingga kompatibilitas antar isolat perlu dilakukan. Hal ini untuk mendapatkan kombinasi antar isolat yang tidak saling menghambat satu dengan yang lain. Kombinasi bisa juga dilakukan antar isolat *Pseudomonas fluorescens* dengan melihat kompatibilitas antar isolat (Tabel 6). Pada tabel 6, ditemukan beberapa isolat yang tidak

Tabel 5. Antagonisme antar bakteri calon agensia pengendalian hayati patogen tumbuhan

Isolat <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Rerata zona hambatan (mm) terhadap isolat:											
	Ba4	Ba22	Ba24	Ba30	Ba33	Ba41	Stre4	Stre7	Stre48	Stre61	Stre66	Stre67
pf22	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,0
pf23	4,8	7,0	7,8	4,5	16,3	7,8	10,5	9,5	8,8	6,0	9,0	10,0
pf30	0,0	7,8	0,0	8,5	8,8	12,8	8,8	1,3	0,0	0,0	2,1	12,5
pf42	0,0	0,0	0,0	0,0	16,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	4,3
pf51	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pf83	0,0	3,8	0,0	0,0	12,5	6,0	8,3	7,0	7,3	6,5	8,5	7,5

Tabel 6. Antagonisme antar isolat *Pseudomonas fluorescens*

Isolat yang diuji	Zona penghambatan (mm) terhadap isolat:					
	pf22	pf23	pf30	pf42	pf51	pf83
pf22	0,0	7,5	10,8	0,0	0,0	5,0
pf23	0,0	6,5	9,5	0,0	0,0	0,0
pf30	0,0	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0
pf42	0,0	9,3	8,5	0,0	0,0	7,8
pf51	0,0	12,0	6,1	9,0	0,0	10,8
pf83	9,1	6,5	8,5	13,0	10,8	13,5

saling menghambat satu dengan yang lain misalnya isolat pf22 dan pf42 atau pf22 dengan pf51. Ditemukan dua isolat yaitu pf23 dan pf81 yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh metabolitnya sendiri sedangkan keempat isolat lainnya tidak. Hal ini mungkin saja terjadi karena adanya senyawa toksik yang diproduksi dalam jumlah yang banyak sehingga menghambat pertumbuhan dari bakteri yang menghasilkannya. Peristiwa ini sering disebut sebagai *feed-back inhibition* pada kultur cair yang kontinyu (*continuous culture*) (Madigan et al., 1979).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa semua isolat *Pseudomonas fluoresen* yang diuji bukan merupakan patogen tumbuhan sehingga bisa digunakan sebagai calon agensia pengendalian hayati patogen tumbuhan. Meskipun masih memerlukan penelitian lebih lanjut secara molekuler untuk memastikannya, ada kemiripan sifat fenotipik antara isolat pf22 dengan *Pseudomonas fluorescens* biovar II atau IV. Isolat Pf-23, Pf-30, Pf-42, Pf-51, dan Pf-83 memiliki kemiripan sifat fenotipik dengan *P. putida*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan sebagian dari hasil penelitian Riset Unggulan Terpadu XI penulis pertama yang didanai oleh Menristek dengan surat perjanjian Nomor 03/Perc/Dep.III/RUT/PPKI/II/2005 tanggal 1 Februari 2005. Penulis mengucapkan banyak terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

Arwiyanto, T., M. Goto., and Y. Takikawa. 1993. Characterization of Bacteriocins Produced by *Pseudomonas solanacearum*. *Annals Phytopathological Society of Japan* 59:114-122
 Arwiyanto, T. 1997. Biocidal Control of Tobacco Bacterial Wilt: 1. Isolation of Antagonistic Bacteria *Journal of Indonesian Plant Protection* 3: 54-60

Arwiyanto, T., F. Yuniarsih, T. Martoredjo, dan G. Dalmadiyo. 2007. Seleksi *Pseudomonas fluoresen* Secara Langsung di Lapangan untuk Pengendalian Penyakit Lincat pada Tembakau. *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika* (in press).
 Brawn, A-Kiewnick and D.C. Sands. 2001. Gram-Negative Bacteria-Pseudomonas. In: N.W. Schaad, J.B. Jones, and W. Chun. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 3rd edition. APS Press. Minnesota.
 Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1984. Gram-Negative Aerobic. Rods and Cocci. In: N.R. Krieg and J.G. Holt. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilkins. Baltimore.
 Cook, R.J. and K.F. Baker. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. APS Press. St. Paul. Minnesota
 Dalmadiyo, G. 2004. Kajian Interaksi Infeksi Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne incognita*) dengan Bakteri *Ralstonia solanacearum* pada Tembakau Temanggung. Fakultas Pertanian UGM. Disertasi.
 Dropkin, V.H. 1996. *Introduction to Plant Nematology* (Pengantar Nematologi Tumbuhan, alih bahasa Supratoyo). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 366 hal
 Fahy, P.C. and A.C. Hayward. 1983. Media and Methods for Isolation and Diagnostic Tests. In: P.C. Fahy and G.J. Persley. *Plant Bacterial Diseases A Diagnostic Guide*. Academic Press. New York.
 Fahy, P.C. and A.B. Lloyd. 1983. *Pseudomonas: The Fluorescent Pseudomonas*. In: P.C. Fahy and G.J. Persley. *Plant Bacterial Disease A Diagnostic Guide*. Academic Press. New York.
 Goto, M. 1992. *Fundamental of Plant Bacteriology*. Academic Press. Tokyo
 Hayward, A.C. 1994. Systematic and Phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and Related Bacteria. In: Hayward, A.C. and G.L. Hartman (eds.) *Bacterial Wilt, The Disease and The Causative Agents Pseudomonas solanacearum*. CAB International. Wallingford. 123-136
 Jutono, J. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, Soehadi, Susanto. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum untuk Perguruan Tinggi*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta. 227 hal
 Klement, Z., K. Rudolph, and D.C. Sands. 1990. *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kiado. Budapest.
 Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 1997. *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall International, Inc.
 Murdiyati, A.S., G. Dalmadiyo, Mukani, Suwarso, S.H. Isdijoso, A. Rachman, dan B. Hari-Adi. 1991. Observasi lahan lincat di daerah Temanggung. Laporan Hasil Penelitian kerjasama Balittas, Dinas Perkebunan Propinsi Jawa Tengah dan P.R. Jarum. Makalah disampaikan pada Seminar Tembakau di Temanggung, 15 Agustus 1991.
 Palleroni, N.J. 1983. Introduction to the Family Pseudomonasaceae. In: M.P. Starr, H.G. Troper, A. Balows, and H.G. Schiegel (eds.). *The Prokaryotes A Handbook on Habitat, Isolation and Identification of Bacteria*. Springer-Verlag. New York.
 Sands, D.S. 1990. Physiological Criteria-Determinative test. In: Klement, Z., K. Rudolph, and D.C. Sands. *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kado. Budapest. 133-143
 Stolp, H. and D. Gadkari. 1983. Nonpathogenic members of the genus *Pseudomonas*. In: M.P. Starr, H.G. Troper, A. Ballows, and H.G. Schiegel. (eds.). *The Prokaryotes A Handbook on Habitat, Isolation and Identification of Bacteria*. Springer-Verlag. New York.